

**L'ÉPIZOOTIE  
DE FIEVRE APHTEUSE ASIA 1  
DE 1973 AU MOYEN-ORIENT (\*)**

Observations et études faites à l'Institut d'Etat des Sérums  
et Vaccins Razi, Hessarek, Iran

- Préparation et contrôle du vaccin spécifique.
- Vaccination sur le terrain dans le cadre régional.

par

**M. AMIGHI, M. B. MASTAN, M.R. FIROUZI  
J. SANTUCCI, H. GILBERT, J. BALEON, F. PERRENOT  
et A. FROSSORD**

I. – ÉPIZOOTOLOGIE.

«Le destin de la sub-région épizootologique couvrant les pays compris entre la Mer Noire, la Mer Caspienne, l'Océan Indien, le Golfe Persique, la Mer Rouge, la Méditerranée Occidentale, est d'être périodiquement le théâtre de l'évolution de vagues de Fièvre Aphteuse violentes et envahissantes» (1). Cette observation générale vient de trouver une confirmation nouvelle avec l'épizootie récente provoquée par le virus Asia 1.

Le virus Asia 1, jusqu'alors enzootique dans le sub-continent indien, principalement la région de l'Indus (2), ne s'était guère manifesté que par de

---

(\*) Bull. Off. int. Epiz., 1974, 81 (3 - 4), 273 - 285.

brèves incursions vers l'Ouest, en particulier en Israël (3), il y a une quinzaine d'années et plus récemment en 1964 en Iran où l'équipe franco-iranienne de l'Institut Razi démontrait sa présence dans les confins Irano-Afghans du Khorasan (Machad) (4) (5).

Par référence à ces observations antérieures, il faut noter l'importance de l'épizootie présentement décrite qui s'est manifestée avec les caractères d'une «grande épizootie».

Le 24 avril 1973, le virus Asia 1 est identifié sur un lot de bovins destinés à l'abattoir de Téhéran, provenant de la région de l'Est de l'Iran, souvent reconvenue comme source des épizooties du pays (voir carte I).

La plupart des élevages laitiers de la province de Téhéran sont rapidement atteints.

En mai, des échantillons d'aphtes révèlent le virus Asia 1 dans dix nouvelles provinces, et début juin, seules sont encore indemnes les provinces du Khoustestan et du Khordestan ainsi que l'Azerbaïdjan de l'Ouest dont un échantillon en provenance de Rezayeh a été cependant considéré comme suspect.

En juin, le virus Asia 1 est identifié à Koy et à Dacht e Moghan. Tout l'Azerbaïdjan est donc désormais atteint.

Du fait des rapports économiques étroits qui lient les régions occidentales iraniennes aux provinces orientales turques, le virus Asia 1 continuant sa progression vers l'Ouest est identifié à partir du début du mois d'août, d'abord dans les provinces d'Agri et de Kars, et au milieu du même mois dans celle d'Istanbul (6).

## II. - CARACTERES COMPARES DU VIRUS ASIA 1 DE LA PRESENTE EPIZOOTIE PAR RAPPORT AUX VIRUS ASIA 1 ANTERIEUREMENT ISOLEES.

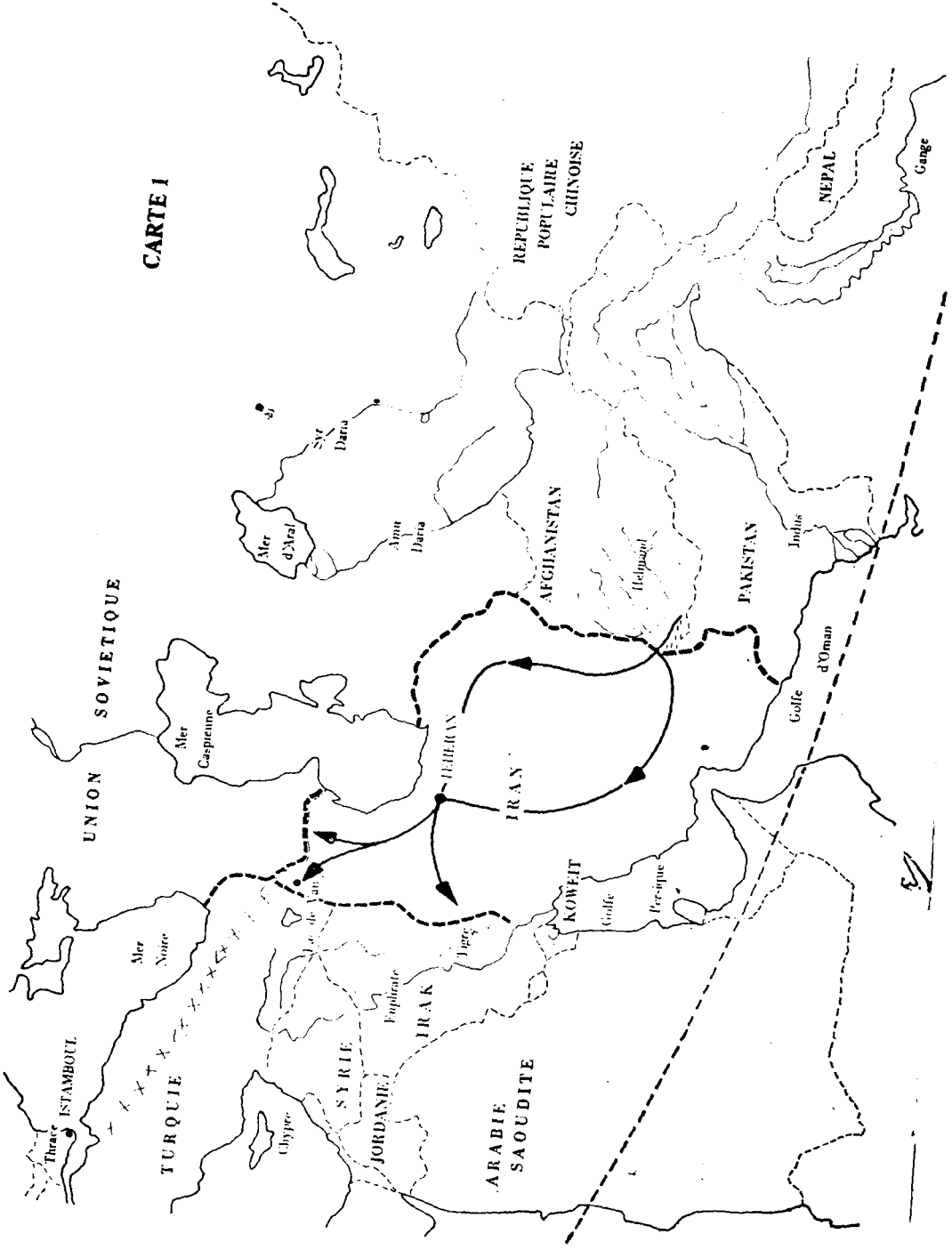
### 2.1. *Du point de vue clinique:*

Jusqu'alors, le comportement des virus de type Asia 1 était apparu aussi bien au laboratoire que sur le terrain comme différent de ceux des autres types de virus, sa multiplication «*in vitro*» et «*in vivo*» étant notamment plus lente et la symptomatologie en général moins sévère que pour ces derniers (7, 8).

#### *En Iran.*

Les lésions observées sur les animaux des élevages laitiers de la province

# CARTE 1



de Téhéran sont très graves. Outre les localisations ordinaires à la bouche et aux pieds, on peut constater sur nombre de sujets des aphtes mammaires dont l'apparition entraîne l'effondrement de la production laitière chez les vaches atteintes (9). Comme le dit en la circonstance une haute personnalité scientifique iranienne: «Pour la première fois l'Iran sent passer la Fièvre Aphteuse».

#### *En Turquie.*

Dans la région d'Ankara, des observations identiques sont effectuées sur des bovins de race sélectionnée et des cas de mortalité fréquente sont signalés parmi les veaux.

#### *2.2 Du point de vue sérologique:*

L'équipe franco-iranienne utilisant une technique précédemment décrite (10) obtient en juillet 1973 un premier lot de sérum hyperimmun sur le cobaye, puis en décembre 1973 deux autres lots. Les titres de ces sérums mesurés par la technique Kolmer-IFFA se situent après lyophilisation entre 1/90 et 1/350.

Un travail effectué en Angleterre par le Laboratoire Mondial de Référence de Pirbright montre la similitude de réactions des souches Asia 1 Iran 1973, Birmanie 1971 et Afghanistan 1971, par rapport aux mêmes sérums de diagnostic et incite à conclure provisoirement à l'identité de ces souches en attendant la préparation d'un sérum hyperimmun homologue sur cobaye (12).

Des études sérologiques de parenté sont également effectuées à l'Institut Razi. Leurs résultats feront l'objet d'une publication ultérieure séparée.

#### *2.3. Du point de vue immunologique:*

L'équipe franco-iranienne se propose d'évaluer le cas échéant la parenté immunologique entre les souches Asia 1 Iran 1964 et Asia 1 Iran 1973, par des épreuves d'immunité croisées.

Les résultats de celles-ci permettraient d'apprécier s'il y a eu, ou non, apparition d'un nouveau sous-type (11).

### III. – PRODUCTION DU VACCIN.

#### *3.1. Cultures du virus Asia 1 Iran 1973:*

Les techniques suivantes ont été employées pour préparer les antigènes des réactions sérologiques et produire le virus nécessaire à la préparation du vaccin:

- cultures sur cellules de lignée de rein de porc;
- cultures sur épithélium lingual bovin en survie (procédé Frenkel-IFFA);
- cultures sur cellules BHK (monolayers);
- cultures sur cellules rénales de veau.

### 3.1.1. Cultures sur une lignée cellulaire de rein de porc:

Cette *lignée cellulaire* établie en décembre 1961 au Laboratoire d'Alfort a été décrite dans plusieurs de ses phases (13,14, 15). Elle a été utilisée pour divers taravaux (16, 17, 18) notamment à l'Institut Razi où ses séries BA et BD ont été importées en mai 1963. Les conditions de son entretien en Iran ont été précédemment publiées (18).

Les *virus* initiaux ont été des virus sauvages bovins provenant d'élevages de la région de Téhéran.

Trois à six passages en boîtes de Roux ont été effectués en vue de disposer d'inoculum suffisants pour l'adaptation des souches à la culture Frenkel.

L'effet cytopathogène était en général observé en 16 à 18 heures sur cellules BA, en 24 heures environ au premier passage et en 12 à 16 heures aux passages suivants sur cellules BD.

### 3.1.2. Cultures sur épithélium lingual bovin en survie (Procédé Frenkel-IFFA).

Les techniques utilisées sont celles mises au point à l'Institut Mérieux, division IFFA (19, 20, 21) et ensuite appliquées à l'Institut Razi (22).

Les épithéliums bovins utilisés au début pour les travaux de recherches et de production proviennent exclusivement d'un centre de récolte installé à Téhéran en avril 1973.

Par la suite, l'importance des demandes de vaccins entraînant l'accroissement des productions amène à réaliser des importations complémentaires d'épithéliums français acheminés en Iran par avion.

Les virus servant aux ensemencements des premiers passages Frenkel sont ceux qui sont produits à partir de culture sur lignée cellulaire de rein de porc.

Une première souche permet d'obtenir en simple culture de 23 heures, dès le troisième passage, des virus dont les titres en fixation du complément selon la technique Kolmer-IFFA (23) sont d'au moins 4. Sur cultures de cellules de lignée BA ces virus titrent au moins  $10^{7,5}$  DECP<sub>50</sub> par ml.

Une seconde souche se révèle avoir en culture Frenkel un comportement plus rapide que celui de la souche précédente, puisque les mêmes résultats sont obtenus après 18 heures de culture.

Une troisième souche expertisée apparaît encore plus «vélogène» que les deux précédentes et du fait de la rapidité de son développement permet la production de virus de fabrication en plus grande quantité grâce à l'utilisation de la technique de multi-culture (20) et de meilleure qualité immunogène ainsi que vont l'attester les résultats des contrôles en cours de fabrication, et des épreuves d'activité des vaccins produits.

### 3.1.3. *Cultures sur cellules BHK (monolayers):*

L'éventualité redoutée de la propagation du virus Asia 1 Iran 1973 en Europe Occidentale a amené les différents pays de ce continent à souhaiter disposer dans les plus brefs délais de virus de semence adaptée à la culture sur cellules BHK, employée dans un certain nombre d'Instituts européens pour la production industrielle de vaccin.

L'adaptation de la souche Asia 1 sur cellule BHK 21, donne dès le 7<sup>e</sup> passage un virus titrant au moins 2 en fixation du complément (méthode Kolmer et 10<sup>7,5</sup> DECP<sub>50</sub>/ml sur culture de tissus (cellules de lignée de rein de porc du Laboratoire Central d'Alfort).

Des fabrications industrielles de virus sur cultures de cellules BHK 21 ont été effectuées.

Les titres obtenus titrent en fixation du complément en général 3 ou 4 et sur cultures de cellules de lignée BD 10<sup>7,5</sup> à 10<sup>8</sup> DECP<sub>50</sub>.

### 3.1.4. *Cultures sur cellules rénales de veau:*

Dans le même but, la souche Asia 1 Iran 73 est adaptée également à la culture sur cellules rénales de veau et les résultats obtenus au 8<sup>e</sup> passage sont identiques à ceux obtenus en culture de cellules BHK au 7<sup>e</sup> passage.

## 3.2. *Préparation du vaccin:*

Les vaccins préparés selon la technique de l'Institut Mérieux, Division IFFA, tant au stade expérimental qu'à l'échelle industrielle, sont des vaccins monovalents à 2 ml la dose.

Il s'agit de vaccins préparés à l'aide d'un virus obtenu selon la méthode Frenkel, inactivés par la chaleur et le formol, adjuvés par la saponine et adsorbés sur hydroxyde d'alumine (25).

Le volume de chaque fabrication varie actuellement entre 500 et 1 000 litres ce qui représente de 250 000 à 500 000 doses.

Vu la demande urgente et importante de vaccins pour des pays du Proche-Orient, des fabrications destinées à l'Iran seulement ont été faites à l'Institut Razi à partir de virus obtenus sur cultures de cellules BHK 21 (24).

### 3.3. *Contrôles:*

Ils s'effectuent sur le vaccin conditionné en flacons de 300 ml.

#### 3.3.1. *Contrôles bactériologiques:*

Ils visent à vérifier que les vaccins sont stériles.

Trois prélèvements sont effectués, en début, milieu et fin de conditionnement.

Chaque prélèvement est contrôlé sur trois séries de trois tubes contenant l'un du milieu de Wellcome enrichi, le deuxième du milieu au thioglycolate de sodium, le troisième de la gélose.

Chaque série de trois tubes est observée pendant 10 jours, l'une à +4°C, la deuxième à 22°C, la troisième à 37°C.

Tout vaccin dans lequel seraient mis en évidence des germes, même non pathogènes, serait refusé.

#### 3.3.2. *Contrôles d'innocuité:*

Ils visent à vérifier que les vaccins ne contiennent ni virus aphteux résiduel, ni substances toxiques.

Leurs modalités de mise en oeuvre dépendent de la destination des lots de vaccin.

Elles concernent un mélange des trois prélèvements faits en cours du conditionnement, ainsi qu'il est décrit au paragraphe précédent.

3.3.2.1. Pour des vaccins destinés à être éventuellement utilisés dans des pays actuellement indemnes et situés géographiquement loin des zones touchées par l'épizootie, ils se déroulent ainsi.

Trois bovins neufs d'environ un an reçoivent chacun 20 injections de 0,2 ml par voie intradermalinguale.

Trois autres bovins neufs de même âge sont inoculés par voie sous-cutanée

au fanon avec 5 doses d'utilisation, soit 10 ml.

Tous ces animaux sont observés *pendant 15 jours*.

L'apparition de la Fièvre Aphteuse entraînerait le rejet du vaccin.

3.3.2.2. Pour des vaccins destinés à être employés dans des pays situés dans la zone d'évolution de l'épizootie, ou à la limite de celle-ci, les techniques utilisées sont celles employées habituellement par l'IFFA-Mérieux en Europe Occidentale.

Trois bovins neufs d'environ un an reçoivent chacun, d'une part par voie intradermolinguale 20 injections de 0,2 ml, d'autre part par voie sous-cutanée 3 doses d'utilisation, soit 6 ml.

Tous ces animaux sont observés pendant 10 jours.

L'apparition de la Fièvre Aphteuse entraînerait le rejet du vaccin.

### 3.3.3. *Contrôles d'activité:*

Ils visent à vérifier que les vaccins procurent un pourcentage minimum de protection de 70 % mesuré au laboratoire, selon les recommandations de la XIIIe Conférence de la Commission de la Fièvre Aphteuse de l'O.I.E. (26).

3.3.3.1 Jusqu'à maintenant, afin de mesurer d'une façon précise le pouvoir immunogène des souches utilisées pour la préparation des vaccins, ils sont effectués de la manière suivante:

4 bovins neufs d'environ un an sont vaccinés avec une dose d'utilisation, soit environ 2 millilitres.

4 bovins neufs de même âge sont vaccinés chacun avec 1/3 de dose d'utilisation, le vaccin étant dilué en tampon inerte (type carbonate - bicarbonate).

4 bovins neufs identiques aux précédents sont vaccinés comme eux mais avec 1/9 de dose.

4 autres bovins neufs sont conservés comme témoins.

21 jours après vaccination, les 16 bovins reçoivent par voie intradermolinguale 10 000 DIB50 réparties en 2 points de 0, 1 ml, chacun de ces points contenant après inoculation 5 000 DIB50 d'un virus bovin homologue de celui utilisé dans la préparation du vaccin.

Les vaccins contiennent au moins 3 doses vaccinales bovines 50 % calculées par la méthode de Litchfield.



En fait, depuis le début de la fabrication industrielle du vaccin Asia 1 Iran 1973, les puissances des lots de vaccin, exprimées par le nombre de doses vaccinales bovines 50 % contenues dans une dose d'utilisation, se sont situées entre 3, 12 et 15,6.

3.3.3.2. Dans l'avenir, lorsque la souche utilisée pour la préparation du vaccin sera parfaitement connue du point de vue immunogène et que, de ce fait, auront pu être fixés d'une façon définitive les paramètres de fabrication du produit, les contrôles se feront en utilisant 12 bovins: 4 animaux vaccinés avec une dose d'utilisation, 4 avec 1/4 de dose et 4 témoins.

#### IV. — DESTINATION DES VACCINS PRODUITS.

4.1. Les vaccins utilisés sur le terrain ont généralement donné de bons résultats:

Une partie de ceux-ci (environ 2 500 000 doses) a été utilisée dans les pays infectés ou très menacés du Proche et du Moyen-Orient, principalement l'Iran.

Une autre partie, égale approximativement à la moitié de la précédente, a été employée à la constitution de zones-tampons dans les pays indemnes mais directement menacés (Grèce et pays balkaniques).

Il faut noter tout particulièrement que l'utilisation large des vaccins dans la région indemne du Sud-Est de l'Europe n'a donné lieu «a posteriori» à aucune observation particulière défavorable et que leur innocuité soigneusement établie en laboratoire selon les techniques exposées précédemment a été confirmée par l'emploi «in the field».

En Iran 4 000 000 de doses (vaccin Frenkel et BHK) ont été utilisées.

4.2. Un stock important devant être complété par une quantité équivalente de vaccin A22 a été constitué pour la Communauté Economique Européenne à Téhéran et est conservé en vue d'être utilisé dans l'un des Pays-membres de cette Communauté s'il y avait urgence épizootologique.

#### V. — CONCLUSIONS.

Grâce à une identification immédiate du virus Asia 1 au Laboratoire de la Fièvre Aphteuse de l'Institut Razi à Hessarek, au moment de l'extension de l'épizootie en direction de l'Ouest, il a été possible de procéder sans délai

à la préparation du vaccin spécifique et du sérum hyperimmun homologue sur le cobaye.

La lutte dans les foyers a pu être entreprise dans la région infectée et constituer le tampon vaccinal classique de protection de l'Europe.

Les dispositions prises par la C.E.E. complètent cette action prophylactique en donnant le moyen de diagnostic aux pays indemnes (attribution de sérum hyperimmun) et en prévoyant la fourniture de virus adapté à une préparation industrielle du vaccin en cas d'extension du virus à l'Europe (virus Frenkelvirus de culture de tissus).

Malgré la régression apparente de l'épizootie et l'ensemble cohérent des mesures prises, une surveillance étroite doit continuer à être exercée dans les régions infectées.

\*\*\*

#### BIBLIOGRAPHIE

1. Note du Directeur de l'O.I.E. sur l'évolution impressionnante de la Fièvre Aphteuse de type Asia 1 au Proche-Orient (5 septembre 1973). *Bull. Off. int. Epiz.*, 1973, **79** (11-12), 1345-1348.
2. Propagation de la Fièvre Aphteuse de type Asia 1 en Turquie et précautions prises. Rapport présenté par la Direction Générale des Services Vétérinaires, Ministère de l'Agriculture de Turquie à la Réunion d'urgence F.A.O./C.E.E./O.I.E. sur la Fièvre Aphteuse de type Asia 1, Ankara, Turquie, 1973, *Bull. Off. int. Epiz.*, 1973, **79** (7-8), 837-841.
3. Uri Spector. - La Fièvre Aphteuse de type Asia en Israël. Thèse présentée à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Lyon.
4. C. Mackowiak, R. Camand, F. Gilbert et J.P. Soulebot. - Organisation de la protection du cheptel européen contre les virus exotiques de la Fièvre Aphteuse. *Bull. Soc. Sci. Vét. Méd. Comparée, Lyon*, 1965, **67**, 331-44.
5. A. Rafyi, J. Santucci, M. Kaveh, M. Girard, M. Arshadi, H. Gilbert, M. Amighi, C. Stollmann, B. Mastan, J. Fontaine, M. Aminzadeh, M. Rouminatzeff, A. Chafyi et M. Hessami. - Etude à l'Institut Razi des souches de virus aphteux isolées au Moyen-Orient de 1962 à 1967. Incidence sur la lutte antiaphteuse. *Bull. Off. int. Epiz.*, 1968, **69** (1-2), 57-74.

6. Note d'Information O.I.E. 320b.
7. H.C. Girard, P. Choonpicharna, P. Smitinondana, U. Charutamra, P. Supavilai, S. Punzaoopatt et P. Longswasdi. – Particularités liées au virus aphteux Asia 1 et à son action pathogène. *Bull. Off. int. Epiz.*, 1959, **51** (7-8), 386-389.
9. M. Hedjazi et M.G.H. Nadalian. – Etude clinique de quelques enzooties de Fièvre Aphteuse bovine dues au type Asia 1 en Iran. *Bull. Off. int. Epiz.*, 1973, **79** (7-8), 823-828.
10. Préparation de sérums hyperimmuns de cobayes nécessaires à la réaction de fixation du complément en matière de Fièvre Aphteuse. Rôle adjuvant de la souche Brucella B19. *Rev. Immunolog.*, 1966, **30**, 31-44.
11. C. Mackowiak, J. Fontaine et M. Roumiantzeff. – Types, sous-types et variantes du virus aphteux. Etude des variantes. – 19e Symp. Intern. Section Permanente de Standardisation Microbiologique «Fièvre Aphteuse: Variantes et Immunité». Lyon, 14 juillet 1967, Série Standardisation Immunologique, Volume 8, Karger, Bâle Ed., 13-64.
12. Fiche d'Information n° 21 du Laboratoire Mondial de Référence de Pirbright.
13. J. Santucci, J. Haag, J. Choay et M. Thaly. – *C.R. Acad. Sci. Paris*, 1962, **254**, 955-957.
14. J. Haag et J. Santucci. – *C.R. Acad. Sci. Paris*, 1962, **254**, 1485-1487.
15. J. Haag et J. Santucci. – *Sem. des Hôp., Annales de Génétique*, 1964, **7**, 671-673
16. J. Haag et J. Santucci. – *Bull. Off. int. Epiz.*, 1964, **61**, (3-4), 265-272.
17. J. Asso, J. Haag, J.M. Aynaud, H. Tapiero et M<sup>me</sup> L. Dhennin. – *Bull. Off. int. Epiz.*, 1964, **61**, 671-677.
18. J. Santucci, M. Amighi, H. Gilbert, M.B. Mastan, M. Hessami, J. Haag et A. Chafyi. – Sensibilité d'une lignée cellulaire de rein de porc au virus aphteux de type SAT1 d'Asie, souches d'Iran et de Turquie. *Bull. Off. int. Epiz.*, 1965, **63** (3.4), 469-475.
19. C. Mackowiak, C. Dubouclard, J. Fontaine, M. Roumiantzeff et R. Camand. – La culture du virus de la Fièvre Aphteuse sur épithélium lingual de bovin en survie. Nouvelle technique permettant une augmentation du rendement en virus. *Commission Européenne de lutte contre la Fièvre Aphteuse*, F.A.O., Plum Island, 26-29 septembre 1967.

20. C. Dubouclard, M. Roumiantzeff, J. Fontaine et C. Mackowiak. – La culture du virus de la Fièvre Aphteuse sur épithélium ligal de bovin en survie. Nouvelle technique permettant une augmentation du rendement en virus. Technique de multiculture. *Bull. Acad. Vét. Fr.*, 1968, **41**, 251–258.
21. C. Mackowiak, C. Dubouclard, H. Favre, M. Roumiantzeff, J. Fontaine, J. Terre et P. Bornarel. – Etude de la culture du virus de la Fièvre Aphteuse sur épithélium lingual bovin en survie. Perspectives actuelles. *Bull. Off. int. Epiz.*, 1969, **71** (1–2), 3–45.
22. R. Camand, H. Gilbert, M. Amighi et A. Korour. – Adaptation du virus aphteux de type SAT1 à la culture Frenkel et préparation d'un vaccin saponiné inactivé. *Bull. Off. int. Epiz.*, 1963, **59** (7–8), 1037–1047.
23. R. Camand. – Etude sérologique des types et variantes du virus aphteux par la réaction de fixation du complément. Thèse Doct. Vét., Lyon, 1953.
24. M. Amighi, M. Hessami, M.B. Mastan et A. Chafyi. – Préparation d'un vaccin antiaphteux concentré inactivé trivalent O-A-SAT1 avec des virus de culture obtenus sur lignée cellulaire de rein de hamster BHK 21 de Macpherson et Stoker. – *Bull. Off. int. Epiz.*, 1964, **61** (9–10), 935–944.
25. C. Mackowiak, H.G. Petermann, R. Camant et J. Fontaine. – Préparation du vaccin antiaphteux. Commission Européenne de lutte contre la Fièvre Aphteuse. Réunion annuelle du Groupe der recherches F.A.O., Amsterdam (Pays-Bas), 29 septembre - 1er octobre 1964.
26. Recommandations de la XIIIe Conférence de la Commission de la Fièvre Aphteuse de l'O.I.E. *Bull. Off. int. Epiz.*, 1972, **77** (7–8), 1371–1376.